La glándula pineal

Julius Axelrod

La glándula pineal se singulariza por ser capaz de sintetizar la hormona melatonina, sustancia que influye en la pigmentación e inhibe el funcionamiento de las gónadas. Esta glándula actúa como transmisor neuroquímico, al traducir ciertos cambios de la iluminación ambiental en mensaje químico, y de ese modo puede ejercer cierto control sobre la reproducción del hombre y otros animales.

La glándula pineal es un órgano diminuto de forma de piña, situado entre los dos hemisferios cerebrales del encéfalo de un mamífero. Hasta hace poco casi nada se sabía de sus funciones. Fue ya conocida por los griegos como único órgano impar del encéfalo humano. En atención a su particular localización, Galeno creyó que serviría a modo de válvula para controlar el flujo de los pensamientos de los hemisferios cerebrales. Más tarde, Descartes, en su libro *De Homine*, sugiere que la glándula pineal sea la sede del alma (Fig. 1). Supuso que gobernaría la actividad de todo el cuerpo, concebido por él como mera máquina. Basado en ideas de los antiguos griegos, afirmó que transmitía información del mundo externo hacia los músculos, mediante humores animales (*spiritus*) que caminan a lo largo de nervios huecos. Más recientemente, sobre todo en los últimos doce años, se ha podido demostrar que la glándula pineal tiene sobresalientes propiedades neuroquímicas.

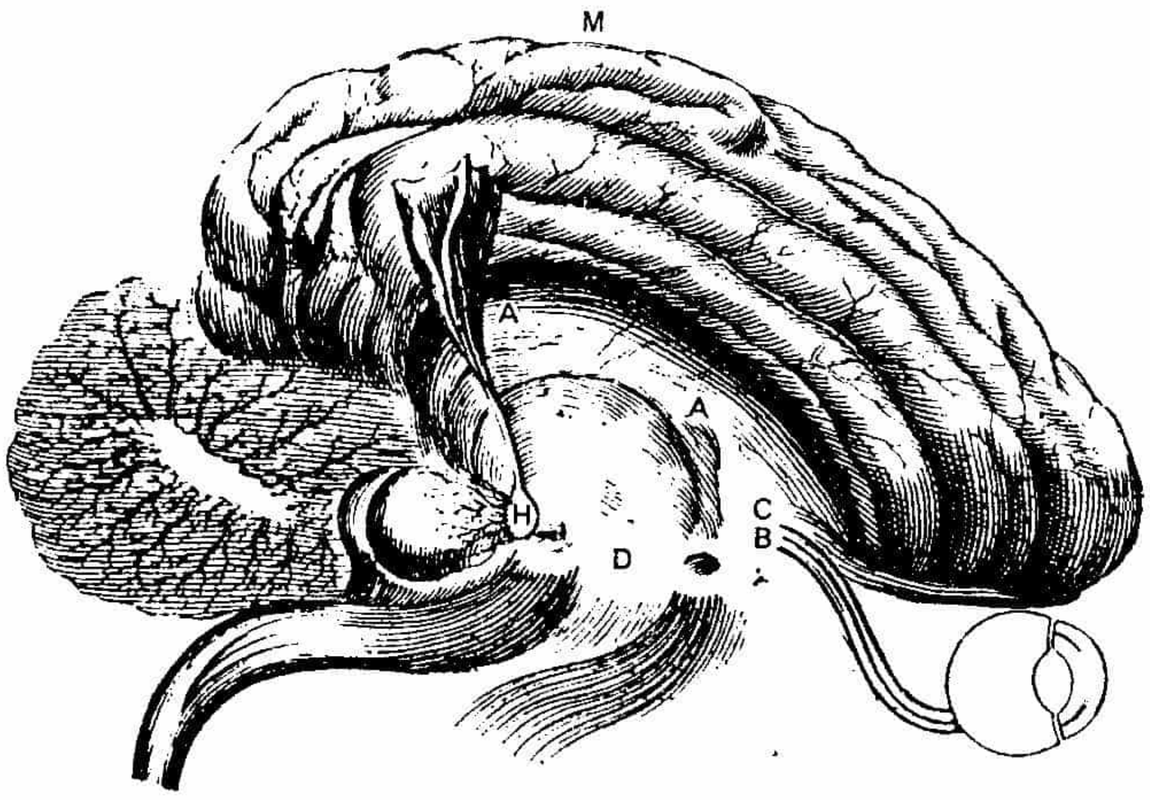

Figura 1 Cerebro mostrando la posición exacta de la glándula pineal en H. (Figura XXXII de *De Homine*. Renatus des Cartes, 1662.)

La primera demostración del papel fisiológico de la glándula se debe al patólogo O. Heubner [1] en 1898. Describió un caso de niño de seis años con pineal destruída por un tumor, niño que manifestaba una maduración sexual precoz. Esto condujo a una serie de experimentos encaminados a descifrar en esta glándula su función reguladora de las gónadas. Se utilizaron primero los métodos clásicos para el estudio de glándulas secretoras, sin tener en cuenta factores neurales y ambientales, lo que condujo a resultados contrapuestos [2]. La desilusión ocasionada por estos experimentos, junto con el hecho de que la pineal humana se calcifica en la pubertad, retrasó las investigaciones, aunque estudios posteriores demostraron que la glándula calcificada es extraordinariamente activa [3].

En 1918, el anatómico N. Holmgren [4] halló células de tipo sensorial en la región pineal de anfibios y peces, que eran parecidas a órganos fotorreceptores. Esto, y la evidente estructura ocular del órgano pineal de la lamprea y los lagartos, hizo sospechar que esta glándula tuviera el significado de un «tercer ojo». Se vio que la extirpación del órgano pineal de la lamprea, hacia perder al animal la facultad de palidecer cuando entraba en la oscuridad [4(a)]. Investigaciones electron-microscópicas posteriores de Kelly [5] encontraron notable parecido entre las células fotorreceptoras de la glándula pineal y las de la retina de rana. Casi al mismo tiempo, el neurofisiólogo Dodt y sus colaboradores [6] descubren que la pineal de rana es capaz de convertir luz de diferentes longitudes de onda en impulsos nerviosos. En 1917 tiene lugar otra observación crucial conseguida por los zoólogos McCord y Allen [7]. Demuestran que la piel de rana y renacuajo empalidece rápidamente al ser alimentados con extractos de pineal de vaca. Sin embargo, hasta 1958 no fue posible al bioquímico y dermatólogo Lerner aislar el principio activo de los extractos pineales de vaca causantes del empalidecimiento de la piel de los anfibios. Aplicando diversas técnicas que combinan extracciones solubilizantes con cromatografía columnar y distribución contracorriente, pudo aislarse el principio a partir de la pineal de vaca [8]. Este principio resultó ser un indol caracterizado estructuralmente como 5-metoxi-N-acetiltriptamina, y recibió el nombre de melatonina (Fig. 2). El aislamiento e identificación de esta sustancia abrió una nueva era en el estudio de la glándula pineal.

Julius Axelrod, *Ph.D.*

Nacido en New York en 1912, estudió en el *College of the City of New York* y en la *George Washington University*. Después de trabajar como químico en un laboratorio comercial por unos 10 años, fue nombrado investigador asociado del *Goldwater Memorial Hospital*. En 1950 entró en el *National Heart Institute* de Bethesda, Maryland, y cinco años después era Jefe de la Sección de Farmacología del Laboratorio de Investigación Clínica del *National Institute of Mental Health*. Como investigador está interesado en la glándula pineal, en los fármacos y en el metabolismo de hormonas.

Acciones fisiológicas de glándula pineal y la melatonina

Al disponerse de melatonina se pudo contrastar sus propiedades fisiológicas con la función que desempeña en la glándula pineal. Se vio que es el más potente agente causante de la contracción de los melanóforos que hay en la piel de rana, 10^5 veces más activo que la noradrenalina [9], hasta entonces el agente natural empalidecedor más potente de que se tenía noticia. Bastan 10^{-13} g/ml de melatonina para obtener un efecto positivo. A esa concentración. la piel de bastantes peces y anfibios palidece rápidamente en la oscuridad. Esta respuesta a la oscuridad se pierde en renacuajos de *Xenopus* [10] ó en larvas de salamandra con pineales extirpadas. El órgano pineal de los anfibios contiene melatonina [11] y el necesario sistema enzimático para fabricarla [12].

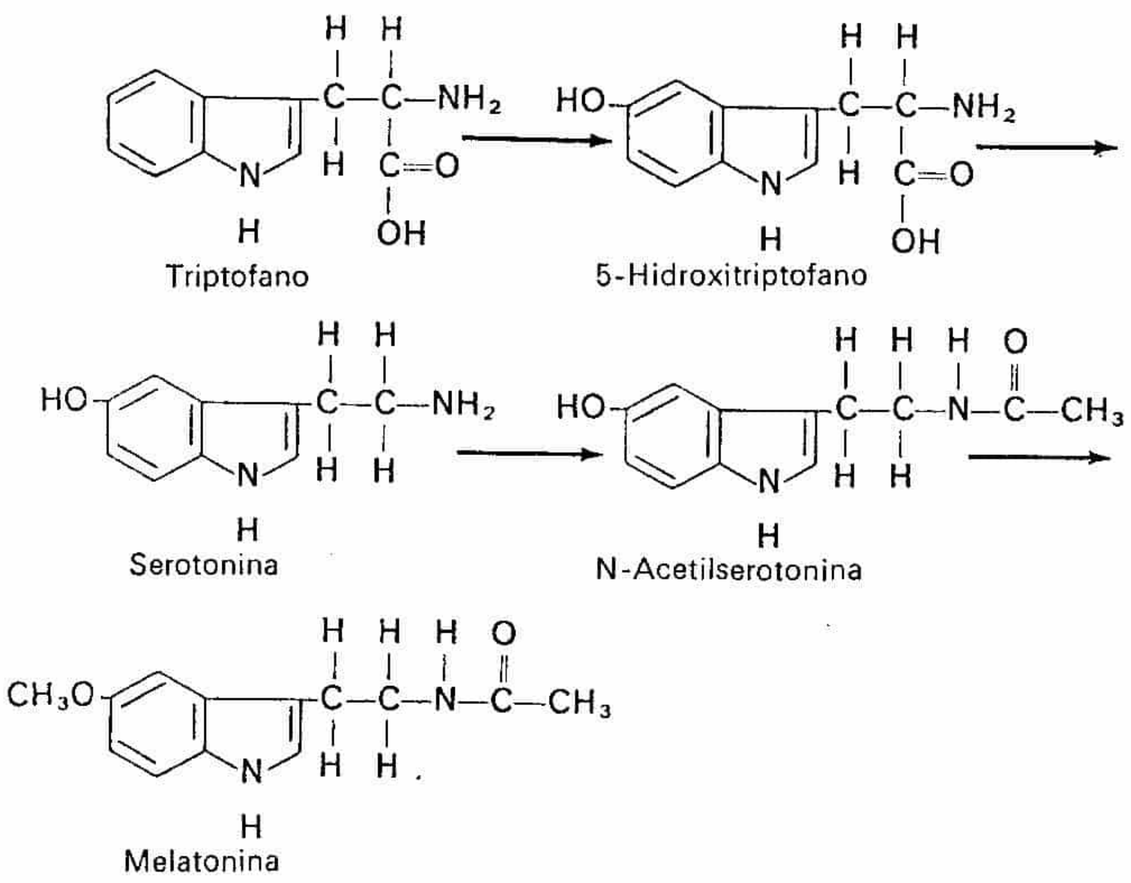

Figura 2 Biosíntesis de melatonina en la glándula pineal de mamíferos.

Estas observaciones, junto con la acción de la melatonina en la piel, demuestran que los órganos pineales de los peces y anfibios provocan cambios en la pigmentación de la piel cuando liberan melatonina en respuesta a la luz.

Se ha demostrado también la acción de la melatonina sobre gónadas de mamífero, acción esencialmente inhibitoria. Demora la apertura vaginal de las jóvenes ratas y reduce el peso de los ovarios [13]. También aminora la cantidad de exudado vaginal diario característico de la fase de estro en el ciclo estrual. La introducción de melatonina en la eminencia mediana del cerebro de rata, inhibe el previsto aumento de hormona luteinizante en la pituitaria [14]. En las aves provoca la pérdida de peso de testículos, ovario y oviducto [15]. También se ha visto que la melatonina rebaja el contenido de hormona melanóforo-estimulante (HMS) de la pituitaria [16], frena la asimilación de ^{131}I [17] y ^{3}H en el tiroides, y aminora la hormona folículo-estimulante (HFS) del suero [19]. En ciertos peces, la melatonina expande unos cromatóforos, mientras contrae otros [20].

La glándula pineal ejerce una notable acción en la gónada del hamster macho [21] y del hurón. Cegando estos animales se consigue reducir el peso de sus testículos, reducción que no ocurre en caso de extirpación de la pineal o de vivisección de sus nervios. En la lamprea, la glándula parece controlar los cambios de metamórfosis [22]. En el gorrión, interviene como elemento importante del sistema cronométrico endógeno [23].

Biosíntesis de la melatonina y otros indoles en la glándula pineal

Enseguida que hubo sido aislada e identificada la melatonina a partir de la glándula pineal de mamífero, procediose a investigar el enzima que determina su formación. La presencia de un grupo metoxi en la melatonina hizo sospechar la intervención de alguna O-metiltransferasa. Estudios anteriores sobre O-metilación de adrenalina sugerían que el metil-donante podría ser S-adenosilmetionina [24]. La incubación de N-acetilserotonina, ^{14}C-metil-S-adenosilmetionina, y un extracto de pineal de vaca aportó cierto producto radiactivo extraíble con cloroformo [25]; este metabolito radiactivo pudo ser identificado como melatonina. Se logró extraer y purificar parcialmente el enzima formador de la melatonina a partir de la pineal de vaca, para luego estudiar sus propiedades [26]. Como mejor sustrato para el enzima se encontró la N-acetilserotonina; la serotonina era sólo una décima parte tan activa como la N-acetilserotonina en calidad de metil-aceptor. El enzima es capaz de metilar también otros hidroxiindoles y se designa como hidroxiindol-O-metiltransferasa (HIOMT). De estos estudios se concluyó que la melatonina se forma enzimáticamente con arreglo al siguiente esquema:

N-acetilserotonina + S-adenosilmetionina → melatonina.

En algunas aves, la serotonina y la N-acetilserotonina son sustratos de valor equivalente [27]. La HIOMT se encuentra característicamente localizada: sólo existe en la glándula pineal de mamíferos [28] y aves [27]. En reptiles, anfibios y peces el enzima formador de la melatonina existe en el ojo y cerebro, además de la glándula pineal [29].

Así pues, la glándula pineal es rica en enzimas biológicamente activos, tales como la serotonina, noradrenalina e histamina [30]. A fin de probar si la pineal de mamífero contiene el sistema enzimático necesario para fabricar melatonina a partir de su precursor normal serotonina, se incubó indol junto con acetil CoA, S-adenosilmetionina y extracto de pineal de vaca [31]. En estas condiciones, la melatonina se producía a partir de la serotonina. Dado que es posible mantener en cultivo orgánico glándulas pineales de rata, se pudo examinar el camino biosintético completo que conduce a la melatonina. Incubación de ^{14}C-triptofano, o ^{14}C-5-hidroxitriptofano, con pineales de rata, condujo a la formación de serotonina, ácido 5-hidroxiindol acético y melatonina [32]. Estos experimentos demuestran que la melatonina se produce según indica la Fig. 2. La primera fase es catalizada por el enzima triptofano-hidroxilasa; la segunda por la aminoácidodescarboxilasa aromática; y la tercera por una aminoacetilasa. Todos los enzimas citados existen a altas concentraciones en la glándula pineal.

La melatonina es metabolizada por el hígado. Es

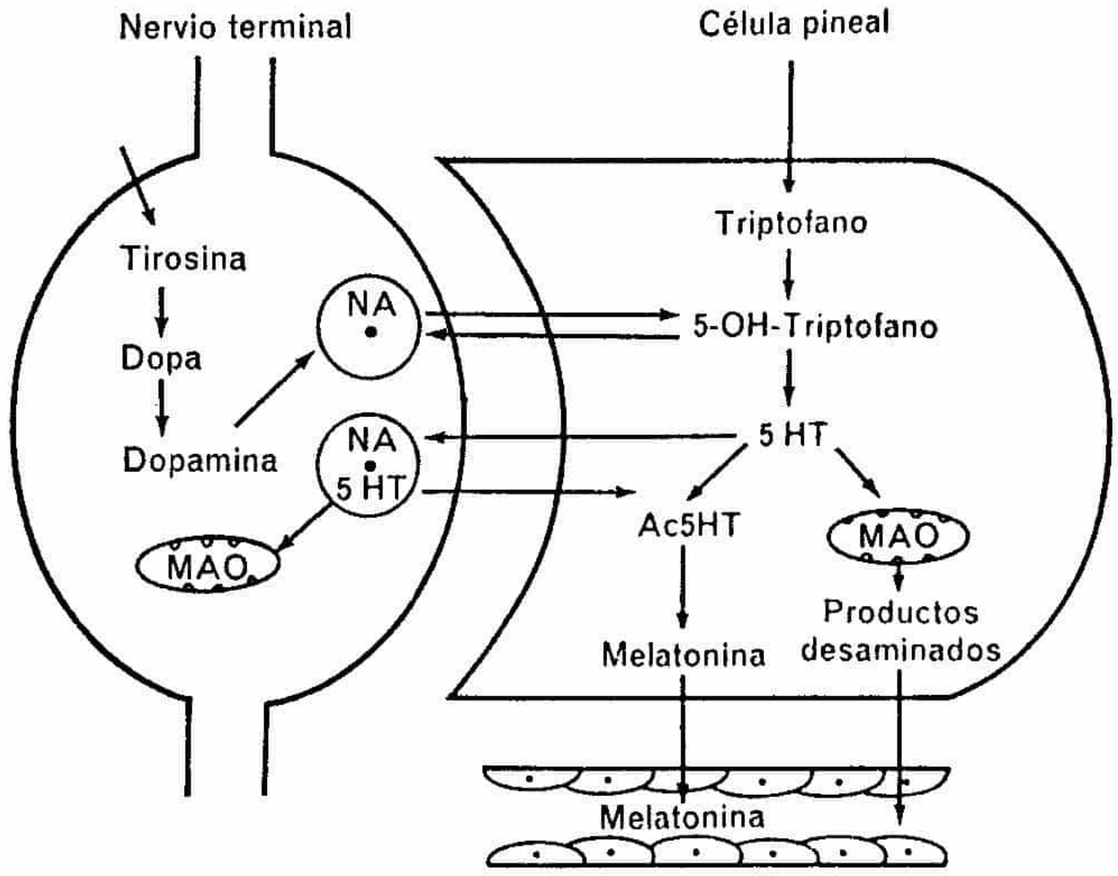

Figura 3 Formación, almacenamiento, liberación y metabolismo de indol y catecolaminas en la pineal de la rata. (5HT, serotonina; NA, noradrenalina; Ac5HT, N-acetilserotonina; MAO, monoaminoxidasa.)

hidroxilada a 6-hidroximelatonina por un enzima del retículo endoplásmico que requiere NADP (nicotinamida-adenina dinucleótido) reducido [35]. La melatonina hidroxilada es después excretada en forma de glucurónido o sulfato conjugado. En la glándula pineal, la serotonina se metaboliza de dos modos: por acetilación (como se indicó arriba) o por desaminación con monoamino-oxidasa (Fig. 3). Parte del indol desaminado es luego oxidado a ácido 5-hidroxiindol acético (y después O-metilado), y parte es reducido a 5-hidroxitriptofol y más tarde metabolizado a 5-metoxitriptofol [34]. Este último actúa sobre la gónada de rata de modo parecido a la melatonina [35].

La glándula pineal de los mamíferos está prodigamente inervada por terminaciones simpáticas. Son los nervios conarios, que toman origen en los ganglios cervicales superiores, atraviesan el tentorio del cerebelo y van directamente a inervar las células parenquimales de la glándula pineal [36]. Las terminaciones de los nervios simpáticos poseen dilataciones que contienen vesículas granuladas de unos 50 nm [37]; en estas vesículas se acumula noradrenalina, esto es, el neurotransmisor del simpático. Interesantes migraciones intracelulares ocurren en la síntesis y metabolismo de los indoles pineales (Fig. 3). El triptofano circulante entra en el pinealocito; luego es hidroxilado a 5-hidroxitriptofano y descarboxilado a serotonina. Parte de la serotonina es N-acetilada y O-metilada; parte es desaminada por monoaminoxidasa presente en la mitocondria; y parte atraviesa la membrana neuronal, donde es retenida y acumulada en las vesículas de núcleo denso, quizá juntamente con noradrenalina [38].

La mayoría de la noradrenalina es sintetizada, bien en la terminación nerviosa, bien en los cuerpos celulares de los ganglios cervicales superiores, como sigue:

Tirosina → dopa → dopamina → noradrenalina.

El primer paso se cataliza con tirosina-hidroxilasa [39]; el segundo con aminoácido-descarboxilasa aromática [40], para dar dopamina. Esta pasa después al interior de las vesículas núcleo-densas, donde es β-hidroxilada a noradrenalina con la intervención de la dopamina. Al descargarse noradrenalina a partir del gránulo almacenador, parte es desaminada por monoamino-oxidasa mitocondrial (AOM) dentro del nervio; parte se libera para reaccionar con la célula del parénquima pineal; el resto pasa al torrente circulatorio. Considerables cantidades de noradrenalina descargada pueden ser tomadas por el nervio de acuerdo con un transporte activo de la membrana neuronal. Parece existir una relación recíproca entre la acumulación de noradrenalina y serotonina en la glándula pineal. Al reducirse selectivamente el contenido de noradrenalina de las glándulas pineales por inhibición de su síntesis, se eleva el contenido de serotonina [41]. Esto significa que tanto la noradrenalina como las aminas biológicamente activas comparten el mismo lugar de almacenamiento dentro de los nervios simpáticos.

Control neural de la actividad bioquímica de la glándula pineal

Constituyó un importante descubrimiento respecto a la glándula pineal observar que su quimismo se ve afectado por la iluminación ambiental, la cual influye por vía neural. Así, este órgano actua como transductor neuro-

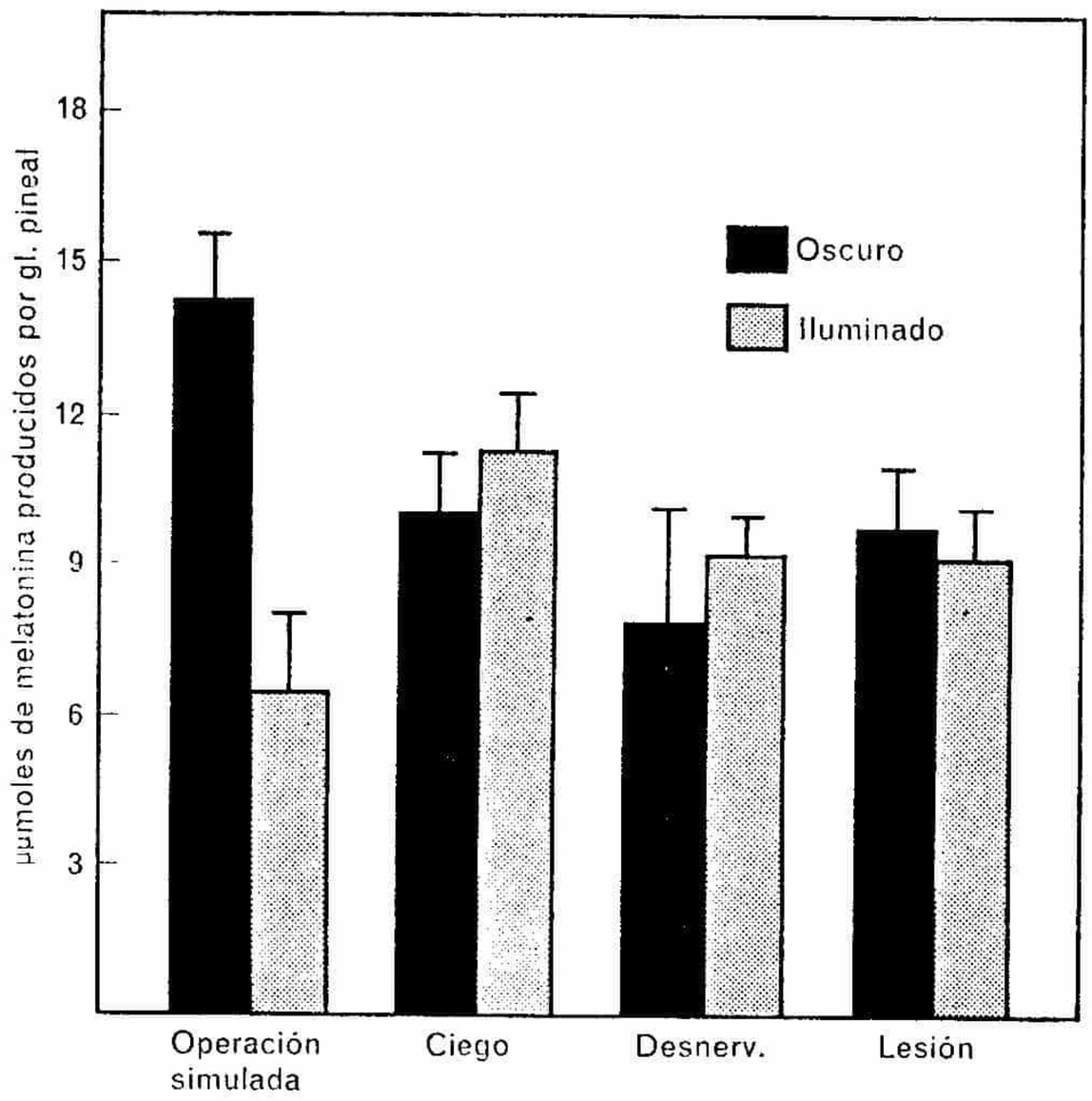

Figura 4 Regulación neural de HIOMT en la pineal de rata. Los animales fueron cegados bilateralmente, ganglionictomizados (desnerv.) o lesionados en el fascículo cerebral mediano (lesión), unos 30 días antes de ser sometidos a oscuridad o luz continuas durante siete dias. La actividad de la HIOMT se midió incubando gl. pineal homogeneizada con ^{14}C-metil-S-adenosil-metionina y N-acetilserotonina, por 1 h. Los resultados se expresan en µµmoles de ^{14}C-melatonina producidos por gl. pineal.

químico, al transformar la información de iluminación en mensajes químicos. Fiske y colaboradores [42] son los primeros en conseguir esto cuando observan que el peso de la glándula decrece en ratas expuestas a continua iluminación. Ya antes se sabía que ratas sometidas a una luz de intensidad constante, quedan en permanente estro [43]. Después se vio que al administrar a ratas extractos de pineal de vaca, se reduce ese persistente estro de la iluminación constante [44]. Estas observaciones indicaban que la glándula pineal debía contener alguna substancia inhibidora de gónadas, y que la producción o liberación de esa substancia disminuye en animales sometidos a iluminación constante.

Nos fue ya posible hallar en la glándula pineal un enzima que fabrica melatonina [25], y poco después nuestro laboratorio dio a conocer que la melatonina reduce la manifestación del estro de las ratas [13]. Todo esto se compagina con la influencia de la iluminación en la síntesis o liberación de melatonina en glándula pineal. El experimento más expresivo consistió en mantener ratas en luz o en oscuridad continuas para después medir la actividad de la HIOMT. En luz continua, la actividad quedaba sensiblemente reducida en comparación con animales en continua oscuridad (Fig. 4) [45]. Estos experimentos indican que la luz anula la síntesis de melatonina, que a su vez reduce la manifestación del estro. La iluminación continua ocasiona estros persistentes al inhibir la formación del inhibidor de la gónada (la melatonina).

Los citados experimentos plantean un nuevo problema. ¿Cómo llegan hasta la glándula pineal los mensajes de iluminación ambiental, y de qué modo influyen en su mecanismo biosintético? Las lampreas, ranas y lagartos

disponen de un órgano parapineal a flor de piel en la región parietal que puede ser estimulado por la luz [5]. La glándula pineal de las aves también posee células sensoriales y complejos lamelares que sugieren función fotorreceptora [46, 47]. Pero la glándula de los mamíferos difiere sensiblemente. Durante el desarrollo embrionario la glándula pineal de la mayoría de los mamíferos emigra a partir del techo del tercer ventrículo y pierde sus conexiones anatómicas con el cerebro, al que sólo le liga un finísimo pedúnculo. Arriba se dijo que la glándula pineal de mamífero es inervada por nervios simpáticos que parten de los ganglios cervicales superiores [36]; a diferencia de los restantes vertebrados, la glándula carece aquí de células fotorreceptoras. Las terminaciones nerviosas simpáticas yacen directamente entre las células parenquimales. Es razonable admitir, pues, que los nervios simpáticos pertenezcan a la vía que liga luz ambiental y mecanismo bioquímico pineal.

A fin de atestiguar esa posible vía, se desnervaron glándulas pineales de rata por extirpación de los ganglios cervicales superiores. Estos animales desnervados, sometidos a continua luz u oscuridad, no daban cambio en la actividad de HIOMT, en contraste con lo que ocurre en ratas normales (Fig. 4). Otro experimento consistió en seccionar bilateralmente el fascículo cerebral mediano (tramo que contiene nervios noradrenérgicos y serotonérgicos). Esta lesión también abolió el efecto de la luz exterior en la HIOMT pineal (Fig. 4).

Nuevos experimentos, destinados a investigar la citada vía, se hicieron con ratas con los ojos extirpados: se seccionaba el tracto óptico accesorio inferior sin interferir en las proyecciones retinales primarias, o bien el tracto óptico primario era disecado. Cegando o seccionando el tracto óptico accesorio inferior se evitaban los efectos que producen los cambios de luz y oscuridad en la actividad de la HIOMT [48]; en cambio, la interrupción del tracto óptico primario que media en la visión ordinaria, no evitaba dichos efectos. En conclusión, el esquema de transmisión de luz externa a glándula pineal quedó establecido como sigue: retina → tracto óptico accesorio inferior → fascículo cerebral mediano → núcleo terminal mediano del sistema óptico accesorio → tracto simpático preganglionico de la médula espinal → ganglios cervicales superiores → fibras postganglionicas (nervios conarios) → células parenquimales de glándula pineal.

El mismo papel transmisor del sistema simpático como portador de información luminosa a la glándula pineal se ha comprobado en otras especies de mamíferos, tales como hamster [21], hurón [49] y mono. La iluminación ambiental regula la actividad de las gónadas, por ejemplo el ciclo estrual de rata 13], peso testicular de hamster [21], y reactivación de gónadas provocada por iluminación adicional [49] vía nervios simpáticos. La luz activa la retina, y el mensaje neural llega a la glándula pineal siguiendo la vía arriba descrita. La glándula, a su vez, estimula o inhibe la biosíntesis de melatonina, y la variable cantidad de melatonina circulante llega hasta la gónada para producir allí sus efectos.

En las aves, la luz afecta a la glándula pineal según un mecanismo que difiere del de los mamíferos [50]. En la gallina, la actividad de la enzima formadora de melatonina es más intensa con luz constante que con oscuridad constante. Al cegar una gallina o extirparle sus ganglios simpáticos, todavía la luz y oscuridad producen cambios en la actividad de HIOMT de la glándula pineal. Es decir, que en contraste con mamíferos, las aves no necesitan ni la retina ni la inervación simpática de la pineal para el control ambiental de la formación de melatonina. Un elegante experimento, en el que se pintó con pintura radioluminosa el píleo de una codorniz japonesa, demostró que la glándula pineal responde directamente a la luz de onda larga, pero no a la de onda corta [57]. También se comprobó en ratas recién nacidas que la luz afecta el nivel de serotonina de la glándula pineal a través de una vía extrarretiniana [52], pero esta vía deja de ser operativa después de unos 27 días de edad.

En los mamíferos, el transmisor simpático influye en la síntesis de la melatonina. Ha sido posible reconocer la naturaleza de este mensajero químico empleando glándula pineal en cultivo de órganos. Así se vio que la glándula es capaz de transformar triptofano en melatonina, en un proceso que requiere la síntesis de nueva proteína. Al añadir noradrenalina [53] o AMP cíclica [54] al medio de cultivo, la formación de melatonina a partir del triptofano se vio muy incrementada. Esto sugiere que la iluminación modula la liberación de noradrenalina vía impulsos nerviosos. Luego, la cantidad de noradrenalina liberada en el parénquima pineal influencia la síntesis de melatonina. Indirectamente, la noradrenalina podría actuar aumentando la formación de AMP cíclica.

Ritmo circadiano en la glándula pineal de la rata

La glándula pineal de los mamíferos tiene altas concentraciones de serotonina, casi igualmente distribuida entre las células parenquimatosas y el nervio simpático terminal [55]. Cuando la rata se mantiene en condiciones

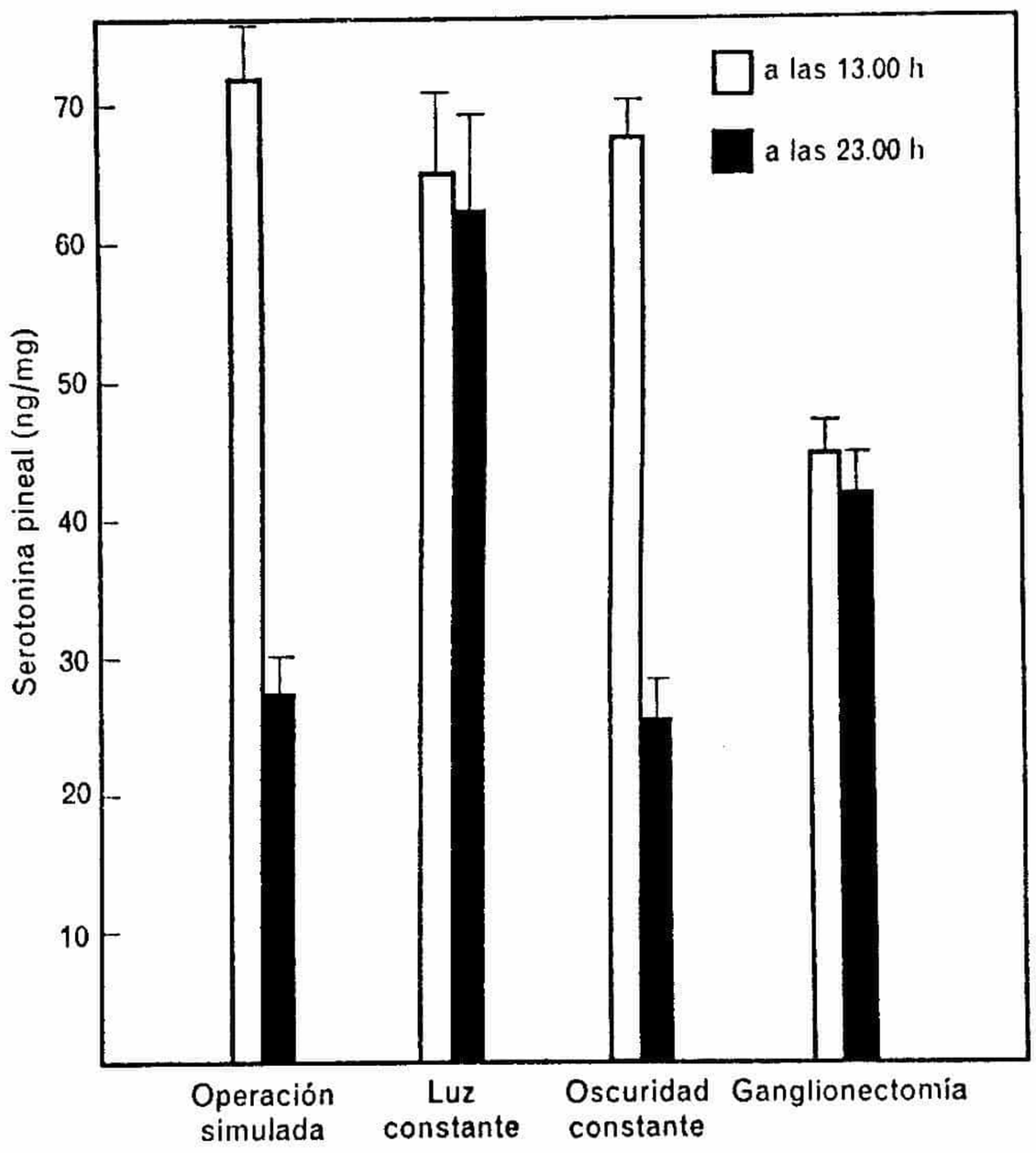

Figura 5 Regulación neural del ritmo circadiano de la serotonina pineal. Para ratas con operación simulada y ganglionictomizadas) gl. superior cérvical) se mantuvieron iluminadas desde las 5.00 h hasta las 19.00 h. Todos los animales se sacrificaron a las 13.00 h o las 23.00 h, midiéndose después el contenido en serotonina pineal.

luminosas normales, el contenido en serotonina de la pineal experimenta enormes cambios diurnos. Las concentraciones son más altas durante el día (a las 13.00 h) y caen bruscamente con el comienzo de la oscuridad a un bajo nivel a las 23.00 h [56] (Fig. 5). Para determinar el mecanismo que rige esta periodicidad, las ratas se mantuvieron constantemente en luz o en oscuridad. Cuando se mantuvieron en oscuridad, o fueron cegadas, la periodicidad de la serotonina persistía [57]. La periodicidad de la serotonina es pues endógena (circadiana), regida por un mecanismo biológico interno. Pero la periodicidad se puede invertir colocando las ratas en ambientes artificiales invertidos (es decir, oscuridad de día y luz de noche) [58]. Estos resultados demostraron que a pesar de ser endógena la periodicidad de la serotonina, la iluminación ambiental sirve de sincronizador.

Las investigaciones sobre HIOMT, parecen demostrar que la información sobre el oscilador que rige la periodicidad de serotonina viene por vía neural. Consecuentemente, las fibras postganglionares de la glándula pineal «degeneraron» al extirpar el ganglio cervical superior. Este hecho anula totalmente el ritmo circadiano [57]. En otro experimento, las fibras se cortaron antes del ganglio, separando de esta manera el cerebro de la glándula pineal: esto también suprimió el alza y baja diarios de nivel de serotonina. Experimentos con ratas recién nacidas demostraron que la periodicidad circadiana comienza a los seis días del nacimiento [52].

Otra periodicidad diaria se encontró en la glándula pineal con la noradrenalina [59]. Al contrario de la serotonina, esta amina está confinada totalmente a las terminaciones de los nervios que inervan la glandula pineal (Fig. 3). Un examen continuado del contenido en noradrenalina de la pineal, indicaba un periodo de 24 horas, encontrándose los niveles máximos de noche y los mínimos de día. Al cegar la rata o al tenerla permanentemente en la oscuridad o en un medio iluminado, la periodicidad de la noradrenalina de la pineal se desvanece. Así, en contraste con la serotonina, la periodicidad de la noradrenalina es exógena y regida por cambios en la luz ambiental más que por un mecanismo interno. Los mensajes sobre la iluminación ambiental alcanzan la pineal y cambian el contenido en noradrenalina por un sistema similar al encontrado para la HIOMT; retina → tracto óptico accesorio inferior → ganglios cervicales superiores.

Referencias

[1] Heubner, O. *Dt. med. Wschr.* (Vereins-Beilag No. 29), **24**, 214, 1898.
[2] Kitay, J. I. y Altschule, M. D. «The pineal gland». Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts. 1954.
[3] Wurtman, R. J., Axelrod, J. y Barchas, J. D. *J. clin. Endocr. Metab.*, **24**, 299, 1964.
[4] Holmgren, N. *Ark. Zool.*, **11**, 1, 1918.
[4a] Young, J. Z. *J. exp. Biol.*, **12**, 254, 1935.
[5] Kelly, D. E. *Am. Scient.*, **50**, 597, 1962.
[6] Dodt, E. y Heerd, E. J. *J. Neurophysiol.*, **25**, 405, 1962.
[7] McCord, C. P. y Allen, F. P. *J. exp. Zool.*, **23**, 207, 1917.
[8] Lerner, A. B. *et al. J. Am. chem. Soc.*, **80**, 2587, 1958.
[9] Lerner, A. B. y Wright, R. M. *Meth. biochem. Analysis*, 8, 295, 1960.
[10] Bagnara, J. T. *Prog. Brain Res.*, **10**, 489, 1965.
[11] van der Veerdonk, F. C. C. *Currents mod. Biol.*, **1**, 175, 1967.
[12] Axelrod, J., Quay, W. B. y Baker, P. C. *Nature, Lond.*, **208**, 386, 1965.
[13] Wurtman, R. J., Axelrod, J. y Chu, E. W. *Science, N.Y.*, **141**, 277, 1963.
[14] Fraschini, F. *et al. Ibid.*, **159**, 1104, 1968.
[15] Homma, K., MacFarland, L. Z. y Wilson, W. D. *Poult. Sci.*, **46**, 314, 1967.
[16] Kastin, A. J. y Schally, A. V. *Nature, Lond.*, **213**, 1238, 1967.
[17] DeProspo, N. D. *et al. Life Sci.*, **7**, 183, 1968.
[18] Cabassa, N. y Sciascia, R. *Radioterap. Radiobiol. Fis. med.*, **20**, 17, 1965.
[19] Sorrentino, S. *Anat. Rec.*, **160**, 432, 1968.
[20] Reed, B. *Life Sci.*, **7**, 961, 1968.
[21] Reiter, R. J. y Hester, R. J. *Endocrinology*, **79**, 1168, 1966.
[22] Eddy, J. M. *J. Endocrinol.*, **44**, 451, 1969.
[23] Gaston, S. y Menaker, M. *Science, N.Y.*, **160**, 1125, 1968.
[24] Axelrod, J. y Tomchick, R. *J. biol. Chem.*, **233**, 702, 1958.
[25] Axelrod, J. y Weissbach, H. *Science, N.Y.*, **131**, 1312, 1960.
[26] *Idem. J. biol. Chem.*, **236**, 211, 1961.
[27] Axelrod, J. y Lauber, J. K. *Biochem. Pharmac.*, **17**, 828, 1968.
[28] Axelrod, J. *et al.* En «Regional Neurochemistry». pág. 307. Pergamon Press, Oxford. 1961.
[29] Quay, W. B. *Life Sci.*, **4**, 983, 1965.
[30] Giarman, N. J. y Day, M. *Biochem. Pharmac.*, **1**, 235, 1959.
[31] Weissbach, H., Redfield, B. y Axelrod, J. *Biochim. biophys. Acta*, **43**, 352, 1960.
[32] Wurtman, R. J., Larin, F., Axelrod, J., Shein, H. M. y Rosasco, K. *Nature, Lond.*, **217**, 953, 1968.
[33] Kopin, I. J., Pare, C. M. B., Axelrod, J. y Weissbach, H. *J. biol. Chem.*, **236**, 3072, 1961.
[34] McIsaac, W. M., *et al. Science, N.Y.*, **148**, 102, 1965.
[35] McIsaac, W. M., Taborsky, R. G. y Farrell, G. *Science, N.Y.*, **145**, 63, 1964.
[36] Kappers, J. A. *Prog. Brain Res.*, **10**, 87, 1965.
[37] Wolfe, D. E. Potter, L. T., Richardson, K. C. y Axelrod, J. *Science, N.Y.*, **138**, 440, 1962.
[38] Wurtman, R. J., Axelrod, J. y Kelly, D. E. «The Pineal», pág. 92. Academic Press, Nueva York. 1968.
[39] Nagatsu, T., Levitt, M. y Udenfriend, S. *J. biol. Chem.*, **239**, 2910, 1964.
[40] Holtz, P., Credner, K. y Kroneberg, G. *Arch. exp. Path. Pharmak.*, **215**, 58, 1952.
[41] Zweig, M. y Axelrod, J. *J. Neurobiol.*, **1**, 87, 1969.
[42] Fiske, V., Bryant, M. y Putnam, J. *Endocrinology*, **66**, 489, 1960.
[43] Browman, L. B. *J. exp. Zool.*, **75**, 375, 1937.
[44] Jochle, W. *Endokrinologie*, **33**, 287, 1956.
[45] Wurtman, R. J., Axelrod, J. y Phillips, L. S. *Science, N.Y.*, **142**, 1071, 1963.
[46] Quay, W. B. y Rensoni, A. *Riv. Biol. colon.*, **56**, 363, 1963.
[47] Bischoff, M. B. y Richter, W. R. «Electron Microscopy», R. Vyeda (Compilador), pág. 523, Maruzen Co., Tokio. 1966.
[48] Moore, R. Y., Heller, A., Wurtman, R. J. y Axelrod, J. *Science, N.Y.*, **155**, 220, 1967.
[49] Herbert, J. *Acta endocr.*, **119**, 46, 1967.
[50] Lauber, J. K., Boyd, J. E. y Axelrod, J. *Science, N.Y.*, **161**, 489, 1968.
[51] Oishi, T. y Kato, M. *Mem. Fac. Sci., Kyoto Univ.* Ser. D., Vol. II, pág. 12.
[52] Zweig, M., Snyder, S. H. y Axelrod, J. *Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A.*, **56**, 515, 1966.
[53] Axelrod, J., Shein, H. M. y Wurtman, R. J. *Ibid.*, **62**, 544, 1969.
[54] Shein, H. M. y Wurtman, R. J. *Science, N.Y.*, **166**, 519, 1969.
[55] Owman, C. *Prog. Brain Res.*, **10**, 423, 1965.
[56] Quay, W. B. *Gen. comp. Endocr.*, **3**, 473, 1963.
[57] Snyder, S. H., Axelrod, J., Zweig, M. y Fischer, J. E. *Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A.*, **53**, 301, 1965.
[58] Snyder, S. H., Axelrod, J. y Zweig, M. *J. Pharmac. exp. Ther.*, **158**, 206, 1967.
[59] Wurtman, R. J., Axelrod, J., Sedvall, G. y Moore, R. Y. *Ibid.*, **157**, 487, 1967.